三种稻飞虱体内类酵母共生菌 18S rDNA 和 ITS-5.8S rDNA 序列克隆及进化分析

周岩岩，董胜张，白　旭，俞晓平*

（中国计量学院生命科学学院，浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室，杭州 310018）

摘要：为研究水稻 3 种主要害虫灰飞虱 *Laodelphax striatellus*、褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 和白背飞虱 *Sogatella furcifera* 体内类酵母共生菌(yeast-like symbiotes, YLS)的种属地位及与寄主的进化关系，测定了其体内 YLS 的 18S rDNA 及 ITS-5.8S rDNA 的全长序列。基于 3 种稻飞虱体内 YLS 的 18S rDNA 序列比对表明，褐飞虱 YLS 和白背飞虱 YLS 的一致性比其与灰飞虱 YLS 的高(褐飞虱 YLS 和白背飞虱 YLS 为 98.91%，灰飞虱 YLS 和褐飞虱 YLS 为 95.74%，灰飞虱 YLS 和白背飞虱 YLS 为 96.02%)，而基于 ITS-5.8S rDNA 序列比对，灰飞虱 YLS 和白背飞虱 YLS 的一致性比其与褐飞虱 YLS 的要高(白背飞虱 YLS 和灰飞虱 YLS 为 99.57%，灰飞虱 YLS 和褐飞虱 YLS 为 91.91%，白背飞虱 YLS 和褐飞虱 YLS 为 90.46%)。基于真菌 18S rDNA 和 ITS-5.8S rDNA 的系统发育树均表明，3 种稻飞虱体内 YLS 与其他已知真菌进化关系较远。本研究证实了昆虫真菌类共生菌与寄主形成了长期的进化关系，从而形成了不同于已知真菌的分类地位。

关键词：稻飞虱；灰飞虱；褐飞虱；白背飞虱；酵母类共生菌；18S rDNA；ITS-5.8S rDNA；系统发育分析

中图分类号：Q965.8　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2012)04-0482-06

Phylogenetic position of yeast-like symbiotes from three rice planthoppers (Homoptera: Delphacidae) based on 18S rDNA and ITS-5.8S rDNA sequences

ZHOU Yan-Yan, DONG Sheng-Zhang, BAI Xu, YU Xiao-Ping* (Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection and Quarantine, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: In order to study the species status of yeast-like symbiotes (YLS) from three rice planthoppers (*Laodelphax striatellus*, *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera*) and the evolutionary relationship of YLS with insect hosts, the complete sequences of 18S rDNA and ITS-5.8S rDNA of YLS from the three planthoppers were determined. Sequence identity comparison of YLS from rice planthoppers was conducted based on 18S rDNA and ITS-5.8S rDNA sequences. The results showed that YLS of *N. lugens* has a higher identity to that of *S. furcifera* (98.91%) than to that of *L. striatellus* (95.74%) according to 18S rDNA sequences, but YLS of *L. striatellus* has a higher identity to that of *S. furcifera* (99.57%) than that to *N. lugens* (91.91%) according to the ITS-5.8S rDNA sequences. Phylogenetic analysis based on both 18S rDNA and ITS-5.8S rDNA showed that YLS from three rice planthoppers has no obvious identity to other known fungi. The results suggest that insect YLS have a close evolutionary relationship with hosts and form a taxonomic group different from other fungi.

Key words: Rice planthopper; *Laodelphax striatellus*; *Nilaparvata lugens*; *Sogatella furcifera*; yeast-like symbiotes (YLS); 18S rDNA; ITS-5.8S rDNA; phylogenetic analysis

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål)、灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (Fallén) 和白背飞虱 *Sogatella furcifera* (Horváth) 均属同翅目(Homoptera)，飞虱科(Delphacidae)，是我国及东南亚水稻产区的主要害虫，其吸食造成的直接危害及因携带病毒所造成的间接损失一直是水稻生产所面临的严重问题(李汝铎等，1996；程遐年等，2003)。3 种稻飞虱由于食性及对温度的要求和适应性不同，在不同地域和各

基金项目：国家重点基础研究发展规划("973"计划)项目(2012CB114105, 2011CB111602)；浙江省自然科学基金重点项目(Z3100594)

作者简介：周岩岩，男，1986 年生，硕士研究生，研究方向为昆虫分子生态学，E-mail: zhouyanyan861205@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yxp@cjlu.edu.cn

收稿日期 Received: 2011-12-05；接受日期 Accepted: 2012-03-28

稻区的发生为害情况也不同。褐飞虱食性单一，只能在水稻和普通野生稻上取食和繁殖；白背飞虱和灰飞虱分别为寡食性和广食性害虫，可为害水稻、小麦、玉米等禾本科植物。褐飞虱和白背飞虱为迁飞性害虫，在我国长江流域及南方稻区发生危害严重；灰飞虱为非迁飞性害虫，但能短距离迁移，在华北、华东、华中和西南等地发生为害较重（刘玉娣等，2009）。稻飞虱腹部脂肪体中通常含有大量 YLS，可随卵直接传递给下一代，对稻飞虱生长发育、生殖发育、致害性变化等方面起到重要作用（Chen *et al.*，1981；Cheng and Hou，2001；白旭等，2009）。稻飞虱与共生菌存在密切的共生关系，稻飞虱为共生菌提供了稳定的微生境和营养，同时依靠共生菌合成食物中缺乏的某些重要营养成分来调节营养平衡，稻飞虱和共生菌之间相互影响、协同进化（Leonardo and Muiru，2003）。

3 种稻飞虱体内 YLS 不仅在形态上有明显的差异，而且在大小上差别显著。其中灰飞虱和白背飞虱体内 YLS 为卵形个体，长度约为 11.3 μm；褐飞虱体内 YLS 主要为长梭形和杆状型，长度约为 15 μm。此外，褐飞虱体内 YLS 的形态（种类）多样性组成较灰飞虱和白背飞虱体内的 YLS 复杂（陈法军等，2006）。而对于 3 种稻飞虱体内 YLS 的种属发生地位的研究，目前仅有 Noda 等（1995）和 Suh 等（2001）分别对 3 种稻飞虱体内 YLS 的 18S rDNA 和 28S rDNA 部分序列进行测定，结果显示与子囊菌亚门（Ascomycotina）核菌纲（Pyrenomycetes）的 *Hypomyces chrysospermus* 亲缘关系最近，并且认为该菌更像是真子囊菌属，而不是真正酵母菌（本文把该菌简称为“NODA 菌”）。除“NODA 菌”外，稻飞虱体内可能存在多种 YLS。张珏锋等（2007，2009）通过卵块培养的方法，从褐飞虱体内分离培养出两株 YLS，其与解脂假丝酵母 *Candida lipolytica* 和嗜盐梗孢酵母 *Sterigmatomyces halophilus* 的序列一致性分别达到 100% 和 99.8%；白旭等（2010）在灰飞虱体内的 YLS 中发现一种与季也蒙毕赤酵母菌 *Pichia guilliermondii* 相似的 YLS；Dong 等（2011）通过体内原位杂交和巢式 PCR 证实了褐飞虱体内存在 *Pichia*-like symbiotes 和 *Cryp*-like symbiotes 两种 YLS。

真菌的 ITS 序列作为中度保守序列，长度大约在 650～750 bp（高凯等，2010）。ITS 序列作为非编码区，承受的进化选择压力较小，相对变化较大，在种间表现出较高的差异，可以为研究真菌的分类鉴定和分子检测提供丰富的遗传信息（Guillamon *et al.*，1998），从而被广泛地应用于解决较低分类单元层次上的真菌系统发育问题，包括近缘属种间的关系（Leblond-Bourget *et al.*，1996；Kernaghan *et al.*，2003；Landeweert *et al.*，2003），甚至种下居群间的关系（Cai *et al.*，1996）。因此，本研究在稻飞虱体内 YLS 18S rDNA 研究的基础上选择信息位点较多的 ITS-5.8S rDNA 序列进行扩增，并进行分子鉴定和同源性分析，进一步从分子水平探讨 3 种稻飞虱体内 YLS 的分类地位，阐明其系统发育及与寄主的进化关系。

1　材料和方法

1.1　供试虫源

试验所用的灰飞虱、褐飞虱与白背飞虱于 2008 年采集于杭州市富阳黄天畈稻田，在盆栽感虫水稻品种 TN1 上饲养 20 余代而建立的实验室种群，人工气候饲养室条件为温度 25℃ ±1℃，相对湿度 80%，光周期 16L∶8D。

1.2　YLS 的分离纯化及 DNA 的提取

分别取刚羽化的 3 种雌性稻飞虱各 200 头，用 75% 的酒精表面消毒 3 min，无菌水漂洗 1 min。解剖腹部取出脂肪体，将脂肪体用 75% 的酒精消毒，无菌水漂洗；然后用终浓度为 30% 的 Percoll，2 000 g 离心 10 min，去除上层杂质，下层沉淀用终浓度为 75% 的 Percoll，100 000 g 超速离心 20 min，75% Percoll 层的絮状物即为纯度较高的 YLS 细胞。

3 种稻飞虱 DNA 的提取采用酵母菌基因组 DNA 提取试剂盒（购自天根生化科技有限公司）。取 YLS 细胞高速离心 1 min，吸除上清，在 YLS 细胞中加入 50 U Lyticase，充分混匀，30℃ 处理 30 min，离心收集沉淀。向沉淀中加入 20 μL 蛋白酶 K 混匀，70℃ 放置 10 min，加入 220 μL 无水乙醇，充分颠倒混匀。将所得溶液加入一个吸附柱中，12 000 r/min离心 30 s 倒掉废液，将吸附柱放入收集管中。向吸附柱中加入 CB2 缓冲液 GD，12 000 r/min 离心 30 s，倒掉废液，将吸附柱放入收集管中。向吸附柱中加入 500 μL 漂洗液，12 000 r/min 离心 30 s，倒掉废液，让吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附柱中悬空滴加 100 μL 洗脱缓冲液 TE，12 000 r/min 离心 2 min，将溶液收集到离心管中经琼脂糖凝胶电泳检测后保存于 －20℃ 备用。

1.3 YLS 18S rDNA 全长 PCR 扩增

上述所提取的 3 种稻飞虱体内 YLS DNA 样品直接作 PCR 扩增模板，所用引物为 18S rDNA 的真菌核糖体 DNA 通用引物 NS1（5′-GTAGTCA-TATGCTTGTCTC-3′）和 NS8（5′-TCCGCAGGTTC-ACCTACGGA-3′）。反应体系为 50 μL，其中包括 0.5 μL LaTaq DNA 聚合酶（5 U/μL），引物（10 μmol/L）各 1 μL，4 μL dNTP（2.5 mmol/L），5 μL 10 × buffer（含 Mg^{2+}），2 μL DNA 模板，加灭菌双蒸水至 50 μL。PCR 反应程序为：94℃ 预变性 5 min；94℃ 变性 30 s，55℃ 退火 30 s，72℃ 延伸 1 min，35 个循环；72℃ 延伸 10 min；扩增完成后，取 5 μL 以 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 YLS ITS-5.8S rDNA 全长 PCR 扩增

上述所提取的 3 种稻飞虱脂肪体 YLS DNA 样品直接作 RCR 扩增模板，所用引物为 ITS1（5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′）和 ITS4（5′-TCCTCC GCTTATTGATATGC-3′）。反应体系同上。扩增完成后，取 5 μL 以 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 PCR 产物序列的测定

PCR 产物电泳回收纯化后，连接到 T-easy 载体上（Promega），连接产物转化到大肠杆菌 *Escherichia coli* DH5α，挑取白色菌落至 5 mL 的 LB 培养液（含 5 μL 50 μg/mL Amp）中，37℃ 下震荡过夜。取 200 μL 的菌液，用煮沸法制备质粒 DNA，PCR 鉴定阳性克隆。提供经 PCR 鉴定插有目的片段的重组克隆送上海英骏公司测序，测序结果在 GenBank 中进行 Blast 同源序列检索。每个 PCR 产物至少挑取 5 个单菌落用于序列测定。

1.6 DNA 序列和遗传关系分析

利用 DNAMAN（DNASTAR, Inc., Madison, USA）对 3 种稻飞虱体内 YLS 的 18S rDNA 和 ITS-5.8S rDNA 进行编辑、校对和比对，并对排序结果进行分析。利用 MEGA5 软件构建基于 3 种稻飞虱体内 YLS 18S rDNA 和 ITS-5.8S rDNA 的 NJ 系统树，系统树的可靠性采用 1 000 次重抽样进行评估。

2 结果与分析

2.1 灰飞虱、褐飞虱和白背飞虱 YLS 18S rDNA 序列比较分析

把测得的 18S rDNA 序列在 GenBank 中提交，其序列号分别为：褐飞虱 JF773148，灰飞虱 JF773149，白背飞虱 JF773150。灰飞虱、褐飞虱和白背飞虱体内 YLS 克隆得到的 18S rDNA 序列同源性比对结果显示，灰飞虱和褐飞虱 YLS 的 18S rDNA 有 73 个碱基的差异，一致性达 95.74%；灰飞虱和白背飞虱 YLS 的 18S rDNA 有 69 个碱基的差异，一致性达 96.02%；褐飞虱和白背飞虱 YLS 的 18S rDNA 仅有 18 个碱基的差异，一致性最高，达 98.91%。中国褐飞虱和日本褐飞虱 YLS 18S rDNA 的一致性达到 99.94%，仅有 1 个碱基对的差异；中国白背飞虱和日本白背飞虱 YLS 18S rDNA 一致性 99.19%；中国灰飞虱和日本灰飞虱 YLS 18S rDNA 一致性最低，为 96.31%。

2.2 灰飞虱、褐飞虱和白背飞虱 YLS ITS-5.8S rDNA 序列比较分析

把测得的 ITS-5.8S rDNA 序列在 GenBank 中提交，其序列号分别为：褐飞虱 JF732894，灰飞虱 JF732895，白背飞虱 JF732896。褐飞虱体内 YLS 的 ITS-5.8S rDNA 长度为 701 个碱基对，灰飞虱为 702 个碱基对，白背飞虱为 703 个碱基对。3 种稻飞虱体内 YLS 的 ITS-5.8S rDNA 共有 58 个位点发生变异，其中有 27 个位点发生替换，31 个位点发生缺失或插入。3 种稻飞虱体内 YLS 该序列的同源性比对结果（图 1）表明，白背飞虱和灰飞虱之间的 YLS 一致性达到 99.57%，灰飞虱和褐飞虱之间的 YLS 一致性为 91.91%，白背飞虱和褐飞虱之间的 YLS 一致性为 90.46%。

2.3 系统树的构建

选定了 10 种具有代表性的真菌、3 种日本稻飞虱体内 YLS 的 18S rDNA 和本实验室 3 种稻飞虱体内 YLS 的 18S rDNA 序列，采用 Neighbor-Joining 法构建基于 18S rDNA 的系统发育进化树。从图 2 看出，3 种稻飞虱体内 YLS 与 *Hypomyces chrysospermus* 亲源关系较近。进一步选定 19 种真菌的 ITS-5.8S rDNA 序列与得到的 3 种稻飞虱体内 YLS 的 ITS-5.8S rDNA 序列，采用 Neighbor-Joining 法构建基于 ITS-5.8S rDNA 的系统发育进化树（图 3）。结果表明，3 种稻飞虱体内 YLS 与其他真菌均有一定的遗传距离，表明飞虱体内类酵母共生菌与其他已知真菌进化关系较远。

3 讨论

对稻飞虱体内 YLS 的研究，国内外学者大多集中在对其 18S rDNA 的研究上。目前为止，3 种稻飞虱体内共同含有的 YLS 是 Noda 等（1995）通过

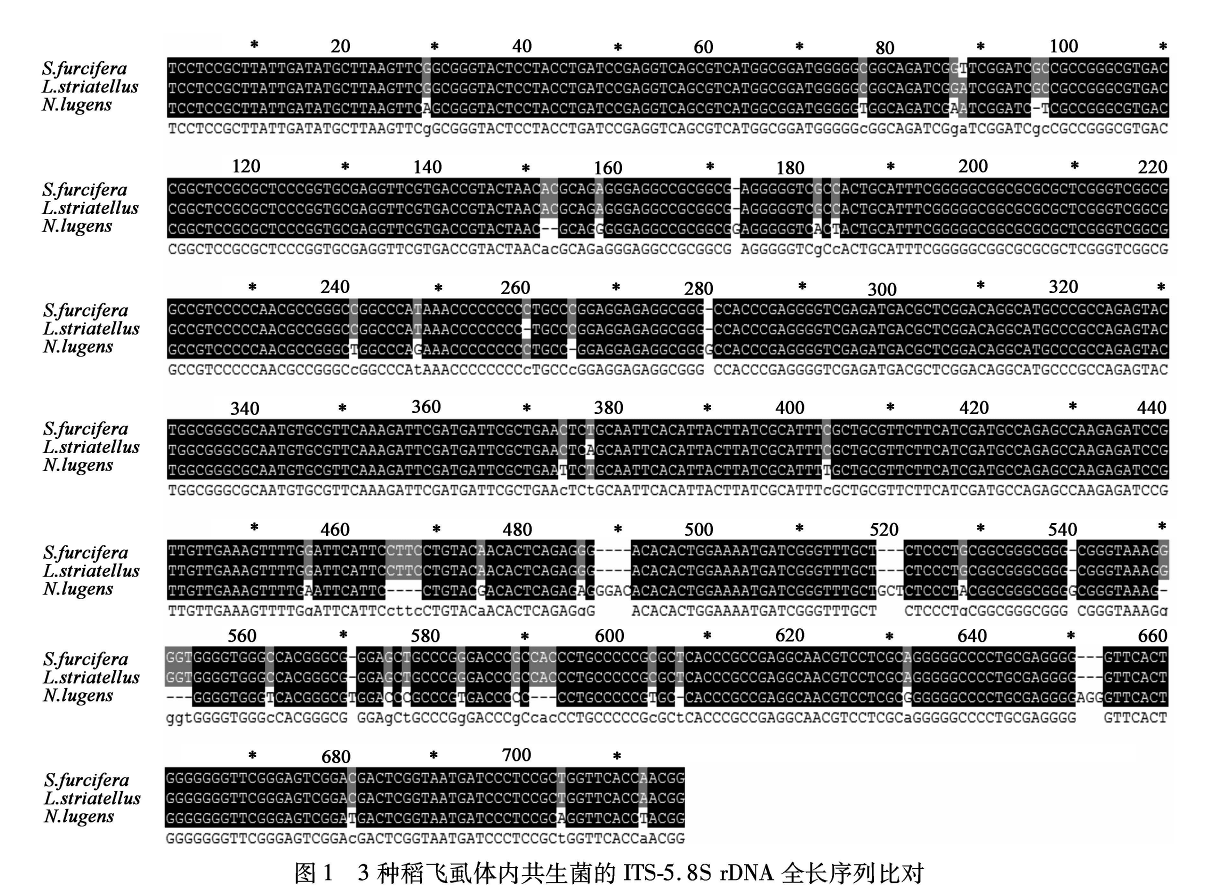


图 1　3 种稻飞虱体内共生菌的 ITS-5.8S rDNA 全长序列比对

Fig. 1　Alignment of ITS-5.8S rDNA sequences of yeast-like symbiotes from three rice planthoppers (*Laodelphax striatellus*, *Sogatella furcifera* and *Nilaparvata lugens*)

18S rDNA 部分序列测定分析得出的结果，一致性比对分析将其暂定为子囊菌亚门（Ascomycotina）核菌纲（Pyrenomycetes）。本研究鉴定的 3 种稻飞虱体内 YLS 的 18S rDNA 分别与 Noda 等（1995）鉴定的 YLS 一致性极高，其中褐飞虱 YLS 与其一致性达 99.94%，白背飞虱 YLS 与其一致性达 99.19%，仅有 1～2 个碱基对的差别，而灰飞虱 YLS 与其的一致性相对较低，仅有 96.13%。褐飞虱和白背飞虱属于迁飞性昆虫，而灰飞虱只能小范围迁移，受地理隔离的影响较大，这可能是灰飞虱种群间一致性低的原因。3 种稻飞虱之间 YLS 18S rDNA 的比对结果显示，灰飞虱 YLS 与褐飞虱 YLS、白背飞虱 YLS 的一致性相对较低，分别为 95.74% 和 96.02%；而褐飞虱 YLS 与白背飞虱 YLS 的一致性则较高，达 98.91%。这可能是因为灰飞虱为广食性害虫，寄主范围很广；从长期进化的角度看，为了适应广泛的寄主，灰飞虱体内的共生菌可能发生了变化。

3 种稻飞虱体内 YLS ITS-5.8S 区序列的同源性分析显示，灰飞虱与白背飞虱之间的一致性较高，而褐飞虱与前两者的一致性相对较低，这与 18S rDNA 的比对结果有所不同。褐飞虱在 ITS-5.8S 区的多位点变异，可能印证了其体内 YLS 的形态（种类）多样性较灰飞虱和白背飞虱复杂的结论。对 3 种稻飞虱体内 YLS 的 18S rDNA 和 ITS-5.8S rDNA 序列与真菌的序列进行进化分析，表明 3 种稻飞虱体内 YLS 与其他真菌进化关系较远。

3 种稻飞虱之间因寄主、食谱、地理位置及迁飞性能力等差异导致了不同稻飞虱体内 YLS 形态特征、组成、保守序列同源性的不同，它们之间是如何相互影响的，探明寄主对稻飞虱体内 YLS 进化的影响，将有助于进一步研究 YLS 对稻飞虱致害性变异的作用。

参考文献（References）

Bai X, Dong SZ, Bian YL, Yu XP, Chen JM, 2009. The relationships between yeast-like symbiotes and ovarian development and reproduction of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 36(5): 421–425. [白旭，董胜张，边亚琳，俞晓平，陈建明，2009. 类酵母共生菌与灰飞虱卵巢发育和产卵量的关系. 植物保护学报，36(5)：421–425]

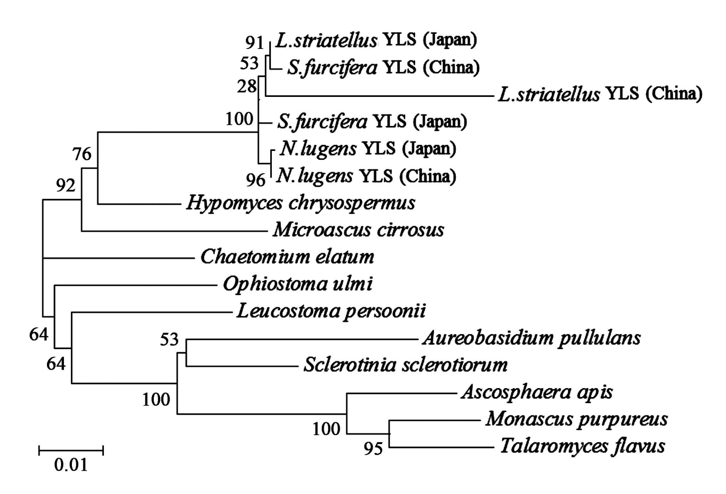


图 2 基于 3 种稻飞虱体内共生菌 18S rDNA 序列的系统树

Fig. 2 A phylogenetic tree based on 18S rDNA of yeast-like symbiotes from planthoppers and other fungi

系统树的可靠性采用 1 000 次重抽样进行评估 Numbers in the nodes correspond to bootstrap values in 1 000 replicates. 标尺示遗传距离 The scale bar represents genetic distance. 3 种日本稻飞虱体内 YLS 18S rDNA GenBank 登录号分别如下 GenBank accession numbers of YLS 18S rDNA from three Japanese rice planthoppers are as follows：灰飞虱 *Laodelphax striatellus* YLS（AF267232）；褐飞虱 *Nilaparvata lugens* YLS（AF267233）；白背飞虱 *Sogatella furcifera* YLS（AF267234）. 18S rDNA 系统树所用真菌及其 GenBank 登录号分别如下 The fungi used for 18S rDNA phylogenetic tree and their GenBank accession numbers are as follows：金孢寄生菌 *Hypomyces chrysospermus*（M89993）；榆长喙壳菌 *Ophiostoma ulmi*（M83261）；卷毛小囊菌 *Microascus cirrosus*（M89994）；短梗霉 *Aureobasidium pullulans*（M55639）；高大毛壳霉 *Chaetomium elatum*（M83257）；蜜蜂球囊菌 *Ascosphaera apis*（M83264）；桃干枯病菌 *Leucostoma persoonii*（M83259）；紫色红曲霉 *Monascus purpureus*（M83260）；核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum*（X69850）；黄蓝状菌 *Talaromyces flavus*（M83262）.

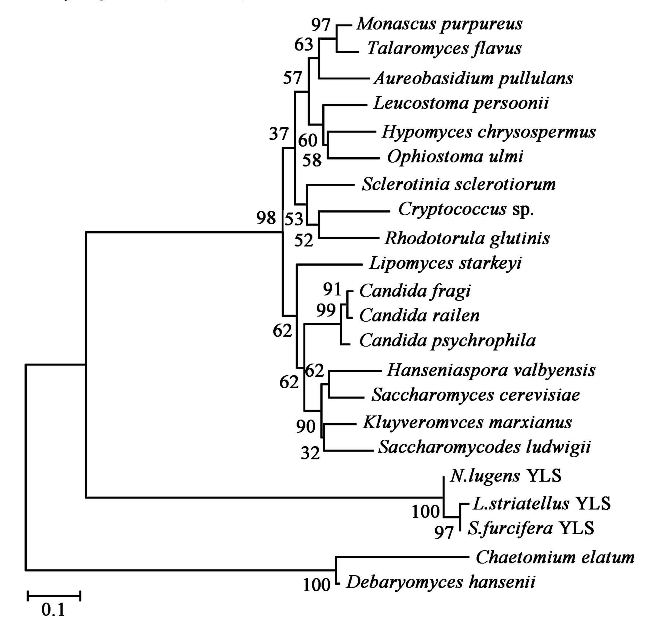


图 3 基于 3 种稻飞虱体内共生菌 ITS-5.8S rDNA 序列的系统树

Fig. 3 A phylogenetic tree based on ITS-5.8S rDNA of yeast-like symbiotes from planthoppers and other fungi

系统树的可靠性采用 1 000 次重抽样进行评估 Numbers in the nodes correspond to bootstrap values in 1 000 replicates. 标尺示遗传距离 The scale bar represents genetic distance. ITS-5.8S rDNA 系统树所用真菌及其 GenBank 登录号分别如下 The fungi used for ITS-5.8S rDNA phylogenetic tree and their GenBank accession numbers are as follows：金孢寄生菌 *Hypomyces chrysospermus*（FJ810150）；榆长喙壳菌 *Ophiostoma ulmi*（HQ292085）；核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum*（JN013184）；短梗霉 *Aureobasidium pullulans*（JN650590）；高大毛壳霉 *Chaetomium elatum*（HM365238）；黄蓝状菌 *Talaromyces flavus*（JN602366）；桃干枯病菌 *Leucostoma persoonii*（EU520163）；紫色红曲霉 *Monascus purpureus*（GU733330）；假丝酵母属 *Candida railenensis*（HQ438312）；法尔皮有孢汉生酵母 *Hanseniaspora valbyensis*（AY046197）；假丝酵母属 *Candida psychrophila*（AY040667）；斯达油脂酵母 *Lipomyces starkeyi*（U82459）；假丝酵母属 *Candida fragi*（FM178329）；隐球酵母 *Cryptococcus* sp.（AF444487）；路德类酵母 *Saccharomycodes ludwigii*（AY046204）；粘红酵母 *Rhodotorula glutinis*（AF444539）；酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*（AB180474）；汉逊德巴利酵母 *Debaryomyces hansenii*（FR686593）；马克思克鲁维酵母 *Kluyveromyces marxianus*（AY046214）.

Bai X, Dong SZ, Pang K, Bian YL, Yu XP, 2010. Identification of one yeast-like symbiont from the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Fallén) (Homoptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(6): 640 – 646. [白旭，董胜张，庞琨，边亚琳，俞晓平，2010. 灰飞虱体内一种酵母类共生菌的分子鉴定. 昆虫学报，53(6): 640 – 646]

Cai J, Roberts N, Collins MD, 1996. Phylogenetic relationships among members of the ascomycetous yeast genera *Brettanomyces*, *Debaryomyces*, *Dekkera* and *Kluyveromyces* deduced by small-subunit rRNA gene sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 46(2): 542 – 549.

Chen CC, Cheng LL, Kuan CC, Hou RF, 1981. Studies on the intracellular yeast-like symbiote in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. 1. Histological observations and population changes of the symbiote. *Z. Ang. Entomol*, 91: 321 – 327.

Chen FJ, Zeng M, Zhang JF, Chen LZ, Lu ZX, Ye GY, Yu XP, 2006. Morphological difference of the yeast-like endosymbiotes in adult planthoppers of *Nilaparvata lugens* (Stål), *Laodelphax striatellus* (Fallén) and *Sogatella furcifera* (Horvath). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 31(4): 728 – 735. [陈法军，曾敏，张珏锋，陈列忠，吕仲贤，叶恭银，俞晓平，2006. 三种稻飞虱成虫体内酵母类共生菌的形态差异. 动物分类学报，31(4): 728 – 735]

Cheng DJ, Hou RF, 2001. Histological observations on transovarial transmission of a yeast-like symbiote in *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera, Delphacidae). *Tissue and Cell*, 33(3): 273 – 279.

Cheng XN, Wu JC, Ma F, 2003. Brown Planthopper: Occurrence and Control. China Agriculture Press, Beijing. [程遐年，吴进才，马飞，2003. 褐飞虱研究与防治. 北京：中国农业出版社]

Dong SZ, Pang K, Bai X, Yu XP, Hao PY, 2011. Identification of two species of yeast-like symbiotes in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Curr. Microbiol.*, 62(4): 1133 – 1138.

Gao K, Du Y, Lv YH, Li YP, Song XH, 2010. Molecular identification of 10 *Phellinus* strains based on rDNA ITS sequences. *Science of Sericulture*, 36(4): 584 – 589. [高凯，杜明，吕英华，李玉平，宋新华，2010. 10 株桑黄菌基于 rDNA ITS 序列的分子鉴定. 蚕业科学，36(4): 584 – 589]

Guillamon JM, Sabate J, Barrio E, Cano I, Querol A, 1998. Rapid identification of wine yeast species based on RFLP analysis of the ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region. *Arch. Microbiol.*, 169(5): 387 – 392.

Kernaghan G, Sigler L, Khasa D, 2003. Mycorrhizal and root endophytic fungi of containerized *Picea glauca* seedlings assessed by rDNA sequence analysis. *Microbial Ecology*, 45(2): 128 – 136.

Landeweert R, Leeflang P, Kuyper TW, Hoffland E, Rosling A, Wernars K, Smit E, 2003. Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1): 327 – 333.

Leblond-Bourget N, Philippe H, Mangin I, Decaris B, 1996. 16S rRNA and 16S to 23S internal transcribed spacer sequence analyses reveal inter- and intraspecific *Bifidobacterium* phylogeny. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(1): 102 – 111.

Leonardo TE, Muiru GT, 2003. Facultative symbionts are associated with host plant specialization in pea aphid populations. *Proc. R. Soc. Lond. Biol.* (*Suppl.*), 270: 209 – 212.

Li RD, Ding JH, Hu GW, 1996. Brown Planthopper and Its Population Management. Fudan University Press, Shanghai. [李汝铎，丁锦华，胡国文，1996. 褐飞虱及其种群管理. 上海：复旦大学出版社]

Liu YD, Lin KJ, Han LZ, Hou ML, 2009. Molecular identification of *Nilaparvata lugens* (Stål), *Sogatella furcifera* (Horvath) and *Laodelphax striatellus* (Fallén) (Homoptera: Delphacidae) based on rDNA ITS1 and ITS2 sequences. *Acta Entomologica Sinica*, 52(11): 1266 – 1272. [刘玉娣，林克剑，韩兰芝，侯茂林，2009. 基于 rDNA ITS1 和 ITS2 序列的褐飞虱、白背飞虱和灰飞虱的分子鉴定. 昆虫学报，52(11): 1266 – 1272]

Noda H, Nakashima N, Koizumi M, 1995. Phylogenetic position of yeast-like symbiotes of rice planthoppers based on partial 18S rDNA sequences. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 25(5): 639 – 646.

Suh SO, Noda H, Blackwell M, 2001. Insect symbiosis: derivation of yeast-like endosymbionts within an entomopathogenic filamentous lineage. *Mol. Biol. Evol.*, 18(6): 995 – 1000.

Zhang JF, Chen JM, Chen FJ, Zheng XS, Chen LZ, Yu XP, 2009. The isolation of yeast-like-symbiots in the brown planthopper and the sequences analysis of its 26S rDNA. *Scientia Agricultura Sinica*, 42(6): 2211 – 2216. [张珏锋，陈建明，陈法军，郑许松，陈列忠，俞晓平，2009. 褐飞虱内共生菌的分离及其 26S rDNA 部分序列分析. 中国农业科学，42(6): 2211 – 2216]

Zhang JF, Wu H, Chen JM, Zheng XS, Chen LZ, Yu XP, 2007. A strain isolated from brown planthopper and its molecular identification. *Chinese Journal of Rice Science*, 21(5): 551 – 554. [张珏锋，吴鸿，陈建明，郑许松，陈列忠，俞晓平，2007. 一株褐飞虱内共生菌的分离及分子鉴定. 中国水稻科学，21(5): 551 – 554]

（责任编辑：赵利辉）